

日 本 国 特 許 庁  
JAPAN PATENT OFFICE

22. 9. 2004

REC'D 11 NOV 2004

別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されている事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed with this Office.

出 願 年 月 日  
Date of Application: 2003年11月28日

出 願 番 号  
Application Number: 特願2003-400817  
[ST. 10/C]: [JP2003-400817]

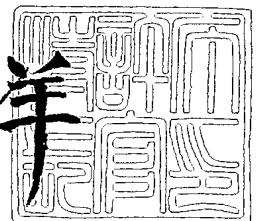
出 願 人  
Applicant(s): 東亜合成株式会社

PRIORITY DOCUMENT  
SUBMITTED OR TRANSMITTED IN  
COMPLIANCE WITH  
RULE 17.1(a) OR (b)

2004年10月29日

特許庁長官  
Commissioner,  
Japan Patent Office

小 川 洋



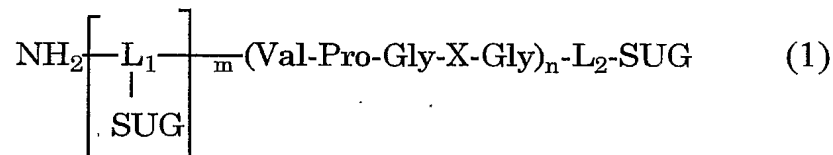
【書類名】 特許願  
【整理番号】 M51128G1  
【特記事項】 特許法第 3 0 条第 1 項の規定の適用を受けようとする特許出願  
【あて先】 特許庁長官 殿  
【発明者】  
    【住所又は居所】 愛知県名古屋市千種区不老町 名古屋大学大学院工学研究科内  
    【氏名】 三浦 佳子  
【発明者】  
    【住所又は居所】 愛知県名古屋市千種区不老町 名古屋大学大学院工学研究科内  
    【氏名】 柴田 千絵理  
【発明者】  
    【住所又は居所】 愛知県名古屋市千種区不老町 名古屋大学大学院工学研究科内  
    【氏名】 小林 一清  
【発明者】  
    【住所又は居所】 愛知県名古屋市港区船見町 1 番地の 1 東亜合成株式会社 新製  
    品開発研究所内  
    【氏名】 吉田 徹彦  
【発明者】  
    【住所又は居所】 愛知県名古屋市港区船見町 1 番地の 1 東亜合成株式会社 新製  
    品開発研究所内  
    【氏名】 山田 喜直  
【特許出願人】  
    【識別番号】 000003034  
    【氏名又は名称】 東亜合成株式会社  
    【代表者】 山寺 炳彦  
【手数料の表示】  
    【予納台帳番号】 043432  
    【納付金額】 21,000円  
【提出物件の目録】  
    【物件名】 特許請求の範囲 1  
    【物件名】 明細書 1  
    【物件名】 図面 1  
    【物件名】 要約書 1

## 【書類名】 特許請求の範囲

## 【請求項 1】

天然には存在しない合成された糖ペプチドであって、下式 (1) で表される糖ペプチド。

## 【化 1】



(上式において X は任意のアミノ酸残基であり、L<sub>1</sub> 及び L<sub>2</sub> はリンカーであり、SUG は糖鎖であり、m は 0 又は 1 であり、n は 1 ~ 10 の整数であり、L<sub>1</sub> 及び L<sub>2</sub> は互いに同じであっても異なってもよく、複数の SUG は互いに同じであっても異なっても良い。)

## 【請求項 2】

上式 (1) における SUG が単糖又はオリゴ糖の糖鎖である請求項 1 記載の糖ペプチド。

## 【請求項 3】

上式 (1) における X が、Val である請求項 1 又は請求項 2 記載の糖ペプチド。

## 【請求項 4】

上式 (1) における m が 0 である請求項 1 ~ 請求項 3 の何れかに記載の糖ペプチド。

## 【請求項 5】

請求項 1 ~ 請求項 4 の何れかに記載の糖ペプチドからなる温度応答性ミセル。

【書類名】明細書

【発明の名称】糖ペプチド及び温度応答性ミセル

【技術分野】

【0001】

本発明は温度応答型の両親媒性化合物である糖ペプチド及びこの糖ペプチドからなる温度応答性ミセルに関するものである。さらに詳しくは、薬物送達システム (DDS) のための新しい製剤やマイクロリアクターにおいて有用な糖ペプチド及びミセルに関する。

【背景技術】

【0002】

これまでの温度応答型の両親媒性化合物は主にポリN-イソプロピルアクリルアミド、ポリN,N-ジエチルアクリルアミドを利用したポリマーが殆どであった (例えば、Macromolecules, 1998, 31, 2394. J. Am Chem. Soc. 1996, 118, 6092.)。これらの化合物と水溶性高分子のブロック共重合体は温度応答性の界面活性剤として機能することが知られている。しかし、これらの化合物のブロック重合体を得ることは容易ではない。また、これらの高分子化合物においては、オームストロングレベルでの重合度の制御は容易ではない。

【0003】

また、従来の温度応答型の高分子のモノマーは生体毒性の高い、アクリルアミドなどであり、ビニル化合物を用いることなく、温度応答性物質を開発することが望まれている。

【0004】

生体安全性の高い、温度応答物質として、細胞外マトリックスであるエラスチンのモデルシーケンスを利用した高分子物質の合成が考えられている。これまでにVal-Pro-Gly-Val-GlyやGly-Val-Pro-Gly-Val-Glyなどの繰り返しシーケンスを有するアミノ酸の多量体が温度応答性的高分子として機能することが示されている (例えばMacromolecules, 1999, 32, 9067. Biomacromolecules, 2000, 1, 552.)。また、エラスチンモデルシーケンスの第4残基を変更したペプチドも温度応答性を示すことがこれまでに報告されている (J. Phys. Chem. B, 1997, 101, 11007)。

しかし、この高分子物質ではポリN-イソプロピルアクリルアミドなどのビニル系の温度応答性高分子と同様に、オームストロングレベルでの制御された化合物は実現していなかった。

【非特許文献1】Macromolecules, 1998, 31, 2394

【非特許文献2】J. Am Chem. Soc. 1996, 118, 6092

【非特許文献3】Macromolecules, 1999, 32, 9067

【非特許文献4】Biomacromolecules, 2000, 1, 552

【非特許文献5】J. Phys. Chem. B, 1997, 101, 11007

【発明の開示】

【発明が解決しようとする課題】

【0005】

本発明は上記事情に鑑み、オリゴペプチドを用いて、温度応答性を有する両親媒性の糖ペプチドを提供しようとするものである。特に、本発明は、生体親和性の高い温度応答性のオームストロングレベルの化合物を提供し、医療材料、薬物輸送、農業などに役に立つ化合物にすることを目的とする。

【課題を解決するための手段】

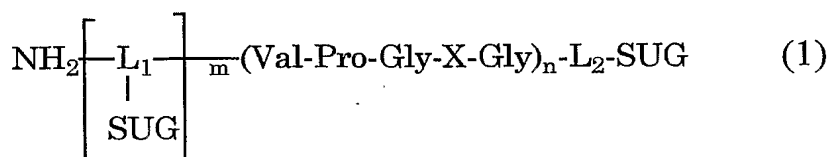
【0006】

本発明は、温度応答的に親水性と疎水性が変化するエラスチンモデルペプチド ( $-(\text{Val-Pro-Gly-Val-Gly})_n-$ ) と親水性の糖鎖を組み合わせた糖ペプチドが特異な温度応答性を有することを見出し、完成されたものである。

即ち、本発明は、天然には存在しない合成された糖ペプチドであって、下式 (1) で表される糖ペプチド及び該糖ペプチドからなる温度応答性ミセルである。

【0007】

## 【化1】



## 【0008】

(上式においてXは任意のアミノ酸残基であり、L<sub>1</sub>及びL<sub>2</sub>はリンカーであり、SUGは糖鎖であり、mは0又は1であり、nは1～10の整数であり、L<sub>1</sub>及びL<sub>2</sub>は互いに同じであっても異なってもよく、複数のSUGは互いに同じであっても異なっても良い。)

## 【発明の効果】

## 【0009】

本発明の糖ペプチドは可逆的かつ、迅速な温度応答性を有し、本発明の糖ペプチドからなるミセルはある温度領域で粒径が変化するという温度応答性を有する。

本発明の糖ペプチドはオングストロングレベルの温度応答性分子であり、精密な応答性を要する薬物送達システムやその他の分子デバイスに用いられる。

更に、本発明の糖ペプチドは生体親和性の高い分子構造によって構成されており、生体材料や農業用材料に適した化合物である。

更に、糖は細胞、病原菌、毒素、ウイルスと特異的な相互作用することが知られており、本発明の糖ペプチドは温度応答的に病原体を抑制する薬剤へとより有利に用いられることとなるのである。

## 【発明を実施するための最良の形態】

## 【0010】

## ○糖鎖

本発明の糖ペプチドに用いることができる好ましい糖鎖は、単糖又はオリゴ糖の糖鎖であり、より好ましくは3糖以下の糖鎖である。

単糖の好ましい例として、マンノース、α、β-グルコース、ガラクトース、フコース、シアル酸、グルコサミン、N-アセチルグルコサミン及びN-アセチルガラクトサミン等がある。

オリゴ糖の好ましい例として、マルトース、セロビオース、ラクトース、イソマルトース、キトビオース、キトトリオース、セロトリオース、マルトトリオース、セロテトラオース、キトテトラオース、セロペンタオース、マルトテトラオース、マルトペンタオース、キトペンタオース、セロヘキサオース、キトヘキサオース、シアリルラクトース、Gb3三糖、Gg3三糖、ならびにこれらのオリゴ糖の硫酸化物等がある。

本発明の糖ペプチドにおいて糖鎖は親水性基を構成するものであり、ペプチドが温度応答により凝集した際、糖ペプチドを両親媒性とするために、エラスチンモデルペプチドの親・疎水性を考慮して、糖が適宜選択される。

## 【0011】

## ○リンカー

本発明にあたっては、ペプチドと糖鎖のリンカーは、ペプチドと糖鎖を結合する有機基を有するものであれば、制限はない。

C末端側の好ましいリンカーL<sub>2</sub>として、パラアミドフェノキシド、アルキルアミン及びエチレングリコールアミンなどがある。

上式(1)においてL<sub>1</sub>は、ペプチド鎖のN末端側に糖鎖を結合させるためのリンカーであり、好ましくはグルタミン酸、アスパラギン酸等のカルボキシル基を有するアミノ酸をペプチド鎖に組み込むことにより、C末端側のリンカーL<sub>2</sub>と同様のリンカーを更に結

合させることにより糖鎖を容易に結合することができる。

### 【0012】

#### ○ペプチド

本発明におけるペプチドは、エラスチンモデルペプチドのオリゴペプチドである (Val-Pro-Gly-X-Gly)  $n$  又は (Glu-Val-Pro-Gly-X-Gly)  $n$  (但し、Xは任意のアミノ酸残基であり、 $n$ は1～10の整数である。) のシーケンスを有するものである。

好ましいペプチドにおいて、前記シーケンスにおけるXはValである。

糖に単糖を用いる場合については、迅速な温度応答性を有するミセルを形成するペプチドはアミノ酸5残基またはアミノ酸10残基のペプチドが適している。より長いペプチド鎖も用いることができるが、そのときには両親媒性の均衡を保つために、より長いオリゴ糖鎖を結合させることが望ましい。例えば、アミノ酸10残基～アミノ酸40残基のペプチドにはオリゴ糖鎖を結合させ、温度応答的両親媒性糖ペプチドを製造することが可能である。

さらに、本発明にあたっては、ペプチドのN末端は、無保護のアミノ基以外に、アセチル基、Boc基(*t*-Butyloxycarbonyl)又はFmoc基(9-Fluorenylmethoxycarbonyl)で保護した基であっても良い。

### 【0013】

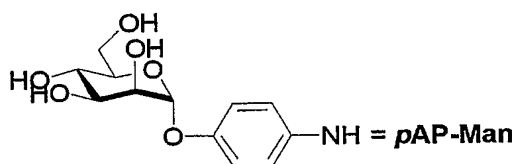
本発明にあたって用いられる、エラスチンオリゴペプチド ((Val-Pro-Gly-Val-Gly)  $n$ 、(Val-Pro-Gly-X-Gly)  $n$ ; Xは任意) はペプチド合成によって簡便に提供される。ペプチド合成は公知である液相合成、固相合成によって簡便に得ることが可能である。

### 【0014】

本発明の第一の好ましい実施様態は、エラスチンモデルペプチドのオリゴペプチドのシーケンスを有するペプチドに、パラアミドフェノキシドをリンカーとして、単糖であるマンノースを結合した糖ペプチドである。具体的には下記糖ペプチドを挙げることができる。

### 【0015】

#### 【化2】

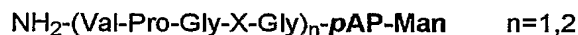
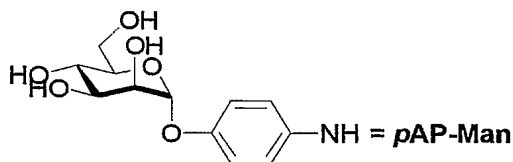


### 【0016】

本発明の第二の好ましい実施様態は、エラスチンモデルペプチドのシーケンスを一部変更した糖ペプチドである。エラスチンモデルシーケンスの第4残基を変更したペプチドも温度応答性を示すことがこれまでに報告されているため (J. Phys. Chem. B, 1997, 101, 11007)、一部のシーケンスを変更した化合物についても、温度応答性を示す。具体的には以下の糖ペプチドを挙げることができる。

### 【0017】

## 【化3】



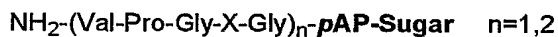
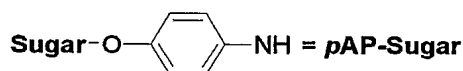
(上式においてXは任意のアミノ酸残基である。)

## 【0018】

本発明の第三の好ましい実施様態はエラスチンモデルペプチドに結合させる糖部分を種々の糖鎖に変更した糖ペプチドである。

## 【0019】

## 【化4】



Sugar=  $\alpha$ ,  $\beta$ -Glucose,  $\alpha$ ,  $\beta$ -Galactose,  $\alpha$ ,  $\beta$ -Glucosamine etc.

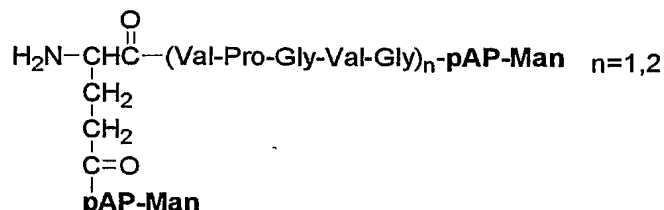
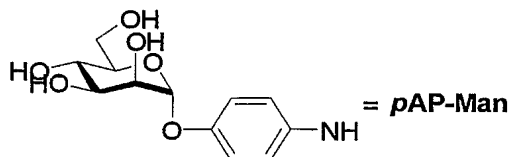
(上式においてXは任意のアミノ酸残基である。)

## 【0020】

本発明の第四の好ましい実施様態は、エラスチンモデルペプチドのC末端に、パラアミドフェノキシドをリンカーとして、マンノースを結合させ、N末端にグルタミン酸の側鎖とパラアミドフェノキシドをリンカーとしてマンノースを結合させた糖ペプチドである。

## 【0021】

## 【化5】

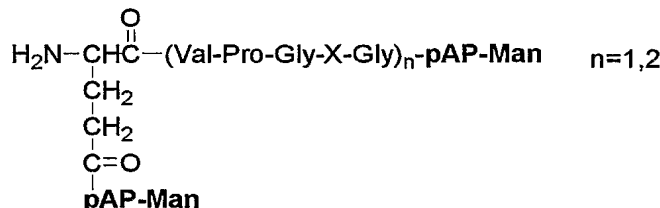
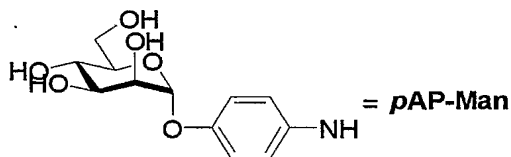


## 【0022】

本発明の第五の好ましい実施様態は、エラスチンモデルペプチドの一部を改変し、パラアミドフェノキシドをリンカーとして、C末端にマンノースを結合させ、グルタミン酸の側鎖とパラアミドフェノキシドをリンカーとして、N末端にマンノースを結合させた糖ペプチドである。

## 【0023】

## 【化6】



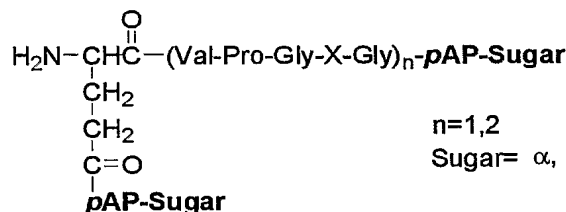
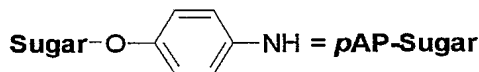
(上式においてXは任意のアミノ酸残基である。)

## 【0024】

本発明の第六の好ましい実施様態は、エラスチンモデルペプチドの一部を改変し、C、N両末端に任意の糖鎖を結合させたペプチドである。

## 【0025】

## 【化7】



n=1,2

Sugar= α, β-Glucose, α, β-Glactose, α, β-Glucosmine etc.

(上式においてXは任意のアミノ酸残基である。)

## 【0026】

## ○糖ペプチドの合成方法

(L1がない場合)

まず、Fmoc法による固相合成によりFmoc-(Val-Pro-Gly-X-Gly)<sub>n</sub>-OHを合成し、次に、公知の方法により糖鎖のアノマー位にリンカーを共有結合させた、リンカー結合型糖鎖を、グリコシル化により、先に合成したオリゴペプチドC末端に共有結合させ、糖鎖結合型オリゴペプチドを得る。その後、ペプチドN末端のFmoc基を脱保護し、逆相シリカゲルクロマトグラフィーで精製し、凍結乾燥することにより目的の糖ペプチドを得る。

(L1がある場合)

グルタミン酸を用いた場合を以下に説明する。

まず、Fmoc法による固相合成によりFmoc-Glu(Val-Pro-Gly-X-Gly)<sub>n</sub>-OHを合成する。

次に、公知の方法により糖鎖のアノマー位にリンカーを共有結合させた、リンカー結合型糖鎖を、グリコシル化により、先に合成したオリゴペプチドC末端及びグルタミン酸側鎖に共有結合させ、両末端に糖鎖を結合したオリゴペプチドを得る。以降上記と同様の手法により目的の糖ペプチドを得る。

## 【0027】

## ○温度応答性ミセル



本発明の糖ペプチドにおいて、ペプチドは、温度応答的に凝集した際、温度応答性疎水基として、糖鎖は親水基として各々作用するため、糖ペプチドは、水中で温度応答性ミセルを容易に形成する。

通常、高温になると、ペプチドの疎水性が強くなり、ある水準で飽和する傾向があり、それに伴い、ミセルの粒径は温度とともに大きくなり、ある最大粒径に達する傾向がある。

ペプチドと糖鎖を適宜選択することにより、ミセルの最大粒径を100～10000 nmの範囲で制御することができる。

#### 【実施例】

##### 【0028】

以下に説明する実施例によって、本発明を更に詳細に説明するが、本発明をかかる実施例に限定することを意図したものではない。

##### 【0029】

まず、マンノースと各Fmoc化アミノ酸（ペプチド研究所、大阪）を出発原料として、化合物1及び化合物4を合成した。

次いで、これらの化合物について、CDスペクトルの測定及び動的光散乱によるミセル形成の測定を行った。

化合物1からなるミセルについて、温度応答性を確認する試験を行った。

以下、合成と測定の方法及びそれらの結果について具体的に説明する。

##### 【0030】

#### A) ペンタ-0-アセチル D-マンノースの合成

ナスフラスコに無水酢酸（88ml）とピリジン（78ml）をとり、氷浴で0℃に冷却し、そこへD-マンノース（10.0g, 5.4 mmol）を加え、磁気攪拌した。反応はTLC（展開溶媒、酢酸エチル：ヘキサン＝2：1）で追跡した。ピリジンをトルエンとともに共沸騰により、減圧濃縮した。濃縮された目的物を酢酸エチルに溶解し、1N塩酸、飽和NaHCO<sub>3</sub>水、水の順に洗浄した。溶液を無水マグネシウムで乾燥した後、減圧濃縮した。（収率>99%）

##### 【0031】

#### B) p-ニトロフェニル-テトラ-0-アセチル α-D-マンノシド

二つ口フラスコにモレキュラーシーブ4Aを入れ乾燥させて窒素雰囲気下にした。ペンタ-0-アセチル α-D-マンノシド（10.0 g, 25.6 mmol）とp-ニトロフェノール（10.7 g, 76.9 mmol, 3 eq）をジクロロメタンに溶かしてフラスコ内に注入し、およそ一時間攪拌した。三フッ化ホウ素エーテル錯体（12.8 ml, 4 eq）を加えて終夜攪拌した。反応の進行をTLC（ヘキサン：酢酸エチル＝1：1）で追跡した。磁気攪拌して、28時間後反応を終了した。セライトでモレキュラーシーブをろ過し、溶液をクロロホルムに希釈し、1N NaOHで3回、水で3回洗浄し、硫酸マグネシウムを入れて乾燥した。硫酸マグネシウムをろ過した後、トルエンを加えて共沸した黄色固体を酢酸エチルとヘキサンで再結晶して白色結晶を得た。

収量 9.1 g

収率 74.8 %

##### 【0032】

#### C) p-ニトロフェニル α-D-マンノシド

p-ニトロフェニル-テトラ-0-アセチル α-D-マンノシド（93.9 mg, 0.2 mmol）とナトリウムメトキシド（4.7 mg）をメタノール7.1 mlに溶かし、攪拌した。反応の進行をTLC（クロロホルム：メタノール＝3：1）で追跡し、一時間後反応を停止した。アンバーリストで中和し、減圧濃縮した。

##### 【0033】

#### D) p-アミノフェニル α-D-マンノシド

p-ニトロフェニル α-D-マンノシドをメタノールに溶かし、水酸化パラジウム（6 mg）を加えた。フラスコに三方コックをつけ水素風船を取り付けフラスコ内を水素置換した。そのまま攪拌し反応の進行をTLC（クロロホルム：メタノール＝3：1）で追跡した。16時

間後反応の終了を確認してパラジウムをろ過した。ろ液を減圧濃縮し、次の反応にそのまま用いた。

**【0034】**

[ペプチド固相合成]

C) 公知のペプチド合成法によって、以下のペプチドを合成した。

ペプチド1 Fmoc-Val-Pro-Gly-Val-Gly-Val-Pro-Gly-Val-Gly

ペプチド2 Fmoc-Val-Pro-Gly-Val-Gly

ペプチド3 Fmoc-Glu-Val-Pro-Gly-Val-Gly-Val-Pro-Gly-Val-Gly

ペプチド4 Fmoc-Glu-Val-Pro-Gly-Val-Gly

精製は逆相HPLCカラムによって行い、MALDI-MSスペクトル（アプライドバイオシステム社製、Voyager）によって、合成の確認を行った。

**【0035】**

D) 化合物1 (NH<sub>2</sub>-Val-Pro-Gly-Val-Gly-Val-Pro-Gly-Val-Gly-pAP-Man) の合成

ペプチド1 (140 mg, 0.13 mmol)を脱水DMFに溶かし、0℃に冷却した。O-(7-アザベンゾトリアゾール-1-イル)-1,1,3,3-テトラメチルウロニウム ヘキサフルオロフォスフェート (HATU) (59.3 mg, 1.2 eq)とジイソプロピルエチルアミン (DIEA) (54  $\mu$ l, 2.4 eq)を加え攪拌した。p-アミノフェニル  $\alpha$ -D-マンノシドのDMF溶液 (1.5 eq)を加え、室温で攪拌した。反応の進行をTLC (クロロホルム:メタノール=1:2)で追跡し、3時間後、HATU 0.5 eqとDIEA 1.0 eqを加えた。一時間後反応を停止し溶媒を減圧濃縮して除いた。LH20ゲルカラム (ファルマシア社製、溶媒メタノール)で精製を行い、Fmoc-Val-Pro-Gly-Val-Gly-Val-Pro-Gly-Val-Gly-pAP-Manを得た。Fmoc-Val-Pro-Gly-Val-Gly-Val-Pro-Gly-Val-Gly-pAP-ManにピペリジンDMF溶液 (20%)を加え、2時間攪拌した。Fmoc保護基が外れたのを確認してから溶媒を減圧濃縮した。メタノールとアセトニトリルから再結晶し遠心分離により固体を収集した。一部をHPLC (0.1%TFA水:メタノール=1:1)でさらに精製し、白色固体 (化合物1)を得た。

収量 6.3 mg

収率 4.4 %

純度 98.3 % (HPLC 0.1 %TFA水:メタノール=1:1で分析)

分子量 1113.6 [M+Na]<sup>+</sup>

**【0036】**

E) 化合物4 (NH<sub>2</sub>-Glu(pAP-Man)-Val-Pro-Gly-Val-Gly-Val-Pro-Gly-Val-Gly-pAP-Man) の合成

ペプチド3 (140mg, 0.12 mmol)を脱水DMFに溶かし、0℃に冷却した。HATU (107 mg, 1.2 eq)とDIEA (90  $\mu$ l, 2.4 eq)を加え攪拌した。p-アミノフェニル  $\alpha$ -D-マンノシドのDMF溶液 (1.5 eq)を加え、室温で攪拌した。反応の進行をTLC (クロロホルム:メタノール=1:1)で追跡し、24時間後反応を終了した。減圧濃縮してDMFを除き、LH20ゲルカラム (溶媒メタノール)で精製を行った。得られた化合物 Fmoc-NH<sub>2</sub>-Glu(pAP-Man)-Val-Pro-Gly-Val-Gly-Val-Pro-Gly-Val-Gly-pAP-ManにピペリジンDMF溶液 (20%)を加え、30分ほど攪拌した。Fmoc保護基が外れたのを確認してから溶媒を減圧濃縮した。逆相シリカゲルカラムクロマトグラフィー (水:メタノール=1:1)で精製し、凍結乾燥して白色固体を得た。

収量 37 mg

収率 21.3 %

純度 95.1 % (HPLC 0.1 %TFA水:メタノール=1:1で分析)

分子量 1495.7 [M+Na]<sup>+</sup>

**【0037】**

F) CDスペクトル測定

以上のようにして得られた糖ペプチド (化合物1と4)の温度に伴うコンフォメーションの変化をCDスペクトル (日本分光、J-720)を用いて測定した。5 $\times$ 10<sup>-4</sup> (M)の糖ペプチドPBSバッファー溶液を光路長1mmの石英セルを用いて、CDスペクトルの測定を行った。

## 【0038】

化合物1と化合物4のCDスペクトルを5℃から50℃まで温度を変化させて、CDスペクトルを測定した。CDスペクトルは温度とともに変化して、構造の変化が25℃から30℃付近で起こることが示された。化合物1(図2) 化合物4(図3)

図2: (A) 化合物1のCDスペクトル (B) 220nmの各温度での[Q]

図3: (A) 化合物4のCDスペクトル (B) 206nmの各温度での[Q]

## 【0039】

G) 動的光散乱によるミセル形成の測定

動的光散乱(DLS、大塚電子 HK-6600)によって、糖ペプチドの粒径の測定より、ミセル形成について観察を行った。

## 【0040】

化合物1と4、また、対照分子として糖を有していないペプチド(NH<sub>2</sub>-Val-Pro-Gly-Val-Gly-Val-Pro-Gly-Val-Gly-OH)を温度を変化させて、溶液中での粒径の測定を行った。化合物1は25℃以上で直径2μmのミセルを、化合物4は直径400nmのミセルを形成した。それに対して、対照ペプチド分子は非常に粒径の大きな凝集体を形成することがわかった。すなわち、エラスチンモデルペプチド(Val-Pro-Gly-Val-Gly-Val-Pro-Gly-Val-Gly-OH)に対して糖を付加させると、高温で両親媒性となり、一定の粒径のミセルを形成することが示される。(図4)

## 【0041】

ポリN-イソプロピルアクリルアミドなどの温度応答性高分子、エラスチンモデルペプチドの多量体からなる温度応答性の高分子は巨大分子であるため、温度応答性に対する時間的なレスポンスの遅れ(通常、数時間~24時間)が観測される(J. Chem. Phys. 1988, 89, 1695; Macromolecules, 2003, 36, 8470)。それに対して、本発明の糖ペプチドはオームストロングレベルの小分子からなるため、早い応答性を有しており、しかもその応答性は繰り返しても保たれる。

## 【0042】

化合物1の溶液について、15℃と35℃の間の温度領域を15分間で温度変化させ、その温度変化を繰り返し、15℃と35℃における粒径測定を行った。化合物1からなるミセルは、昇温により粒径が増大し、降温により粒径が減少するというサイクルを繰り返し、少なくとも5回のほぼ完全なミセル形成が観測されることがわかった。(図5)

## 【産業上の利用可能性】

## 【0043】

本発明の温度応答性糖ペプチドは可逆的かつ、迅速な温度応答性を有し、ミセルを形成する。また、オームストロングレベルの温度応答性分子であるため、精密な応答性を要するドラッグデリバリーシステム(DDS)やそのほかの分子デバイスに用いられる。

具体的には、生体に投与された薬物を必要な組織に必要な時に必要な量だけ送達し、有効な薬物治療を行うドラッグデリバリーシステムに本糖ペプチドを利用した場合、本糖ペプチドはその迅速な温度応答性のため、生体の体温や皮膚温、もしくは生体外部からの温度刺激に対して迅速に反応してミセル内包薬物を放出させるなど、医学的・薬学的にも、或いは化粧料の分野においても、応用価値の高いものである。また、糖鎖は細胞、病原菌、毒素、ウイルスと特異的な相互作用をするため、ミセルを形成させた本糖ペプチドは臓器特異的、あるいは病原菌や毒素特異的にも薬剤を送達することができると考えられる。従って、本糖ペプチドは、放出制御型かつ標的指向型と両者性質を兼ね備えたDDSに利用できるため、産業上非常に有用であるといえる。また、本糖ペプチドを修飾糖鎖として利用することもできる。例えば、タンパク質の翻訳後修飾の一つである糖鎖修飾の過程において、本糖ペプチドの糖鎖を利用し目的のタンパク質に本糖ペプチドを結合させた場合、該タンパク質の構造を温度応答的に変化させることが可能である。従って、本糖ペプチド

は温度応答的に酵素を含めタンパク質の失活あるいは活性の向上を制御することも可能であり、医薬的にも非常に興味深いものである。

【図面の簡単な説明】

【0044】

【図1】 化合物1と化合物4の合成フローを示す図である。

【図2】 化合物1のCDスペクトルを示す図である。

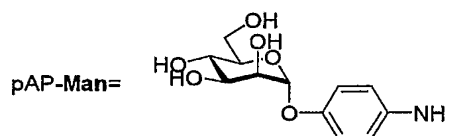
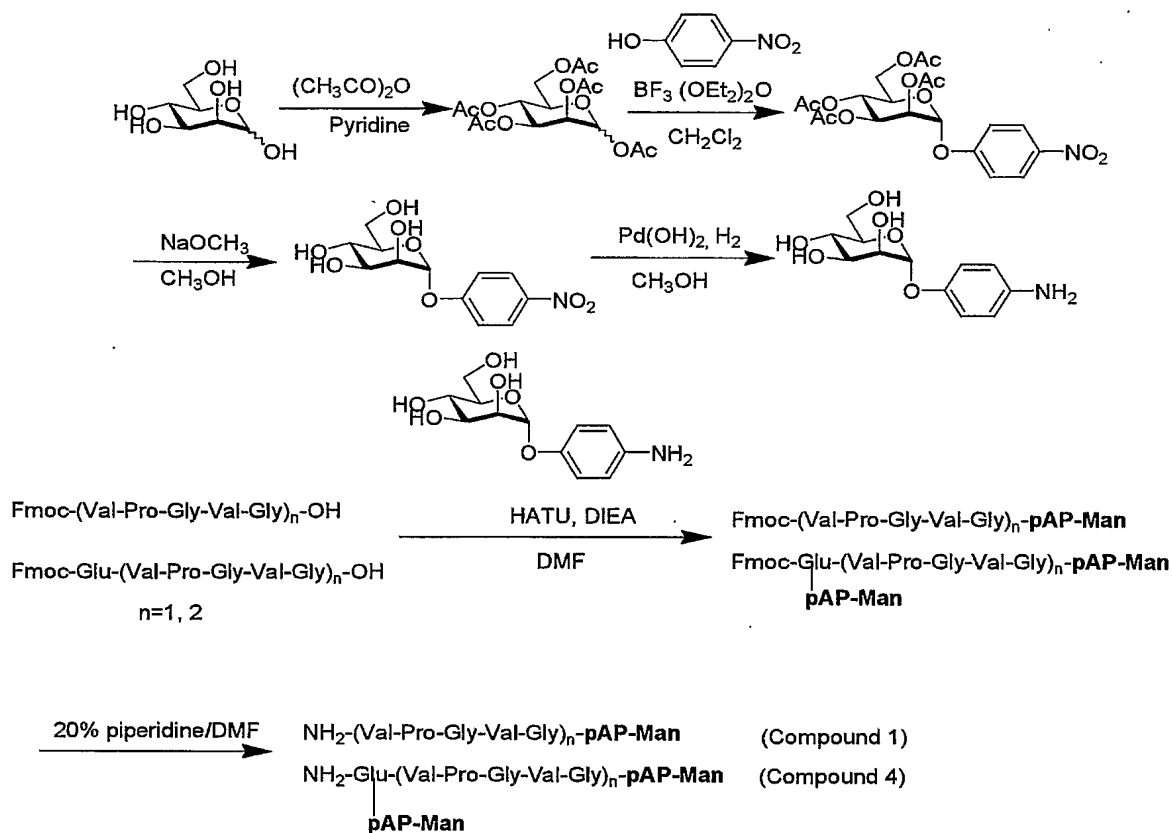
【図3】 化合物4のCDスペクトルを示す図である。

【図4】 化合物1と4のDLS測定結果を示す図である。

【図5】 化合物1からなるミセルの温度応答性を示す図である。

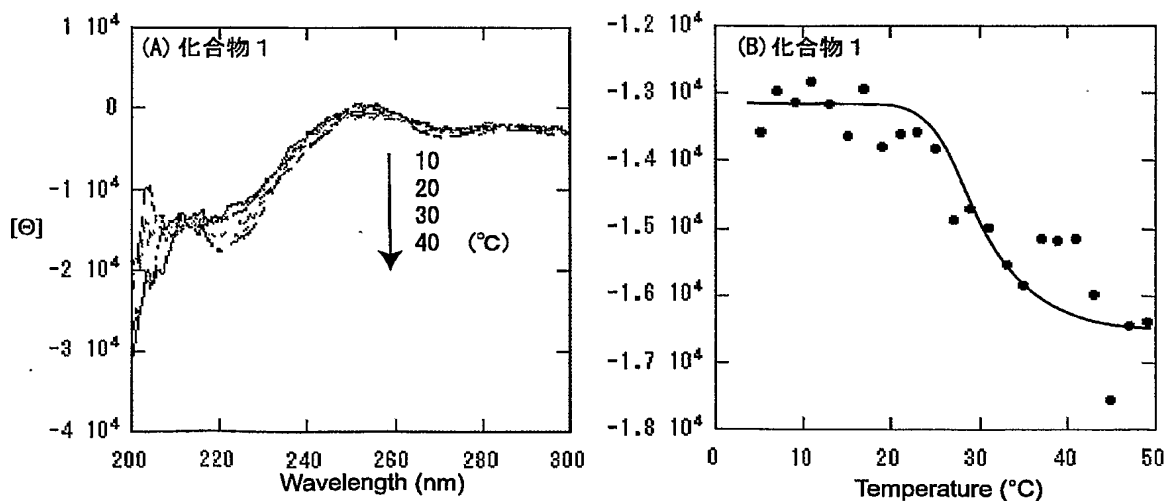
【書類名】 図面

【図 1】

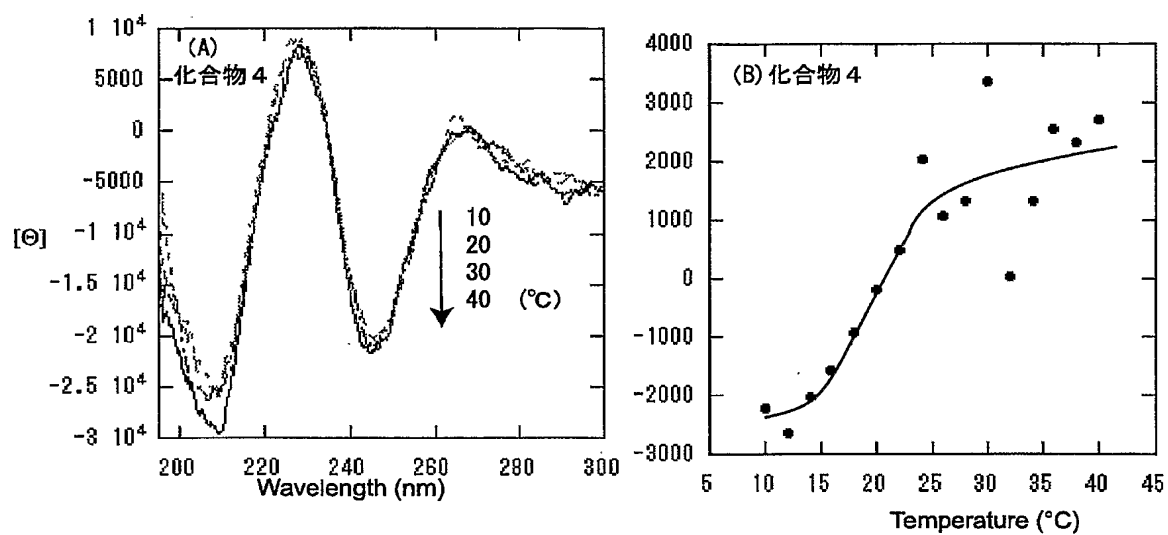


Ac=acetyl, Fmoc=9-fluorenylmethoxycarbonyl

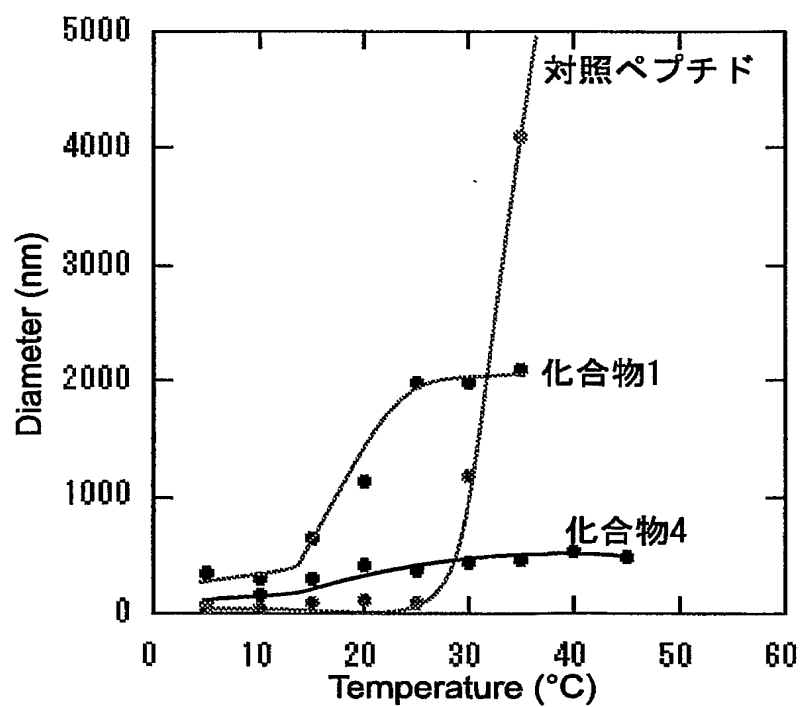
【図 2】



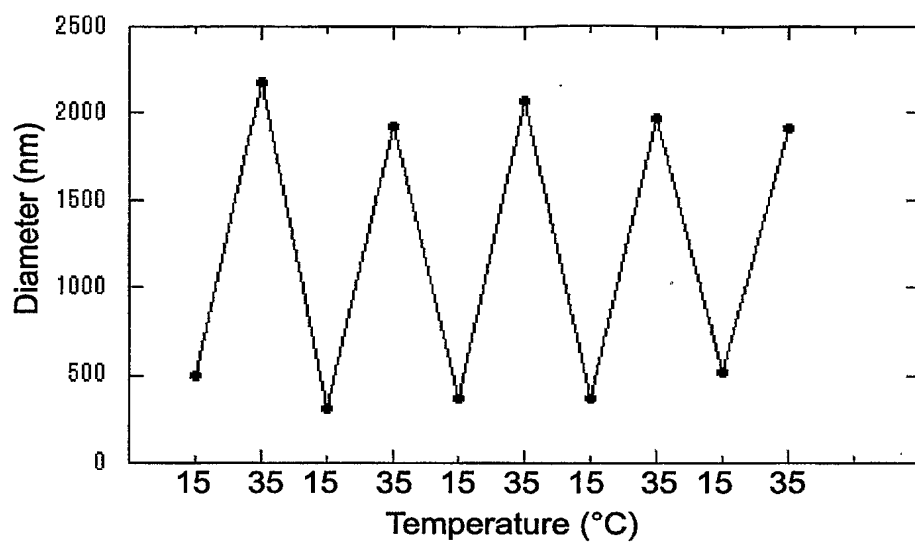
【図 3】



【図 4】



【図 5】



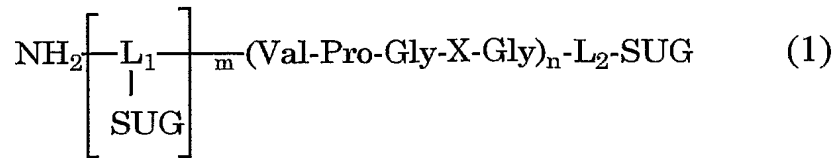
【書類名】要約書

【要約】

【課題】オリゴペプチドを用いて、温度応答性を有する両親媒性の糖ペプチド及び温度応答性ミセルを提供する。

【解決手段】天然には存在しない合成された糖ペプチドであって、下式(1)で表される糖ペプチド及び該糖ペプチドからなる温度応答性ミセル。

【化1】



(上式においてXは任意のアミノ酸残基であり、 $\text{L}_1$ 及び $\text{L}_2$ はリンカーであり、SUGは糖鎖であり、 $m$ は0又は1であり、 $n$ は1～10の整数であり、 $\text{L}_1$ 及び $\text{L}_2$ は互いに同じであっても異なってもよく、複数のSUGは互いに同じであっても異なっても良い。)

【選択図】

なし



認定・付加情報

特許出願の番号	特願 2 0 0 3 - 4 0 0 8 1 7
受付番号	5 0 3 0 1 9 7 1 6 6 0
書類名	特許願
担当官	第一担当上席 0 0 9 0
作成日	平成 1 6 年 1 月 3 0 日

< 認定情報・付加情報 >

【提出日】	平成 1 5 年 1 1 月 2 8 日
-------	----------------------

認定・付加情報

特許出願の番号	特願 2003-400817
受付番号	50301971660
書類名	特許願
担当官	岩谷 貴志郎 7746
作成日	平成16年 9月10日

<認定情報・付加情報>

【提出日】 平成15年11月28日

特願 2 0 0 3 - 4 0 0 8 1 7

出 願 人 履 歴 情 報

識別番号

[ 0 0 0 0 0 3 0 3 4 ]

1. 変更年月日

1 9 9 4 年 7 月 1 4 日

[変更理由]

名称変更

住 所

東京都港区西新橋 1 丁目 1 4 番 1 号

氏 名

東亜合成株式会社